193—199 猴艾滋病；D型逆转病毒；病理；诊断 3534(18)

动 物 学 研 究 1992，13(2)：193—199
Zoological Research
ISSN 0254—5853
CN 53—1040/Q

综 述

猴D型逆转录病毒和猴艾滋病

陈志斌 贲昆龙*

（中国科学院昆明动物研究所 650107）

S858.9

1983年在加里福利亚和新英格兰灵长类研究中心先后发现了与人艾滋病的表现相似的猴艾滋病（Simian AIDS, SAIDS）（Letvin *et al.*, 1983；Henrickson *et al.*, 1983）。引起SAIDS的病原体有猴艾滋病D型逆转病毒（Simian AIDS Type D Retrovirus, SRV）和猴免疫缺陷病毒（Simian Immunodeficiency Virus, SIV）。由于灵长类和人类在进化上亲缘关系密切，SRV和SIV可作为人免疫缺陷病毒HIV的研究模型，如研究抗病毒化疗及已缺陷的免疫功能的恢复；研究疫苗的保护作用等。最近还发现人类内源性D型逆转录病毒与SRV有明确的亲缘关系。SIV在其天然宿主非洲来源的猴不致病，在美国某些灵长类中心的致病宿主亚洲猴中流行率低于1%。SRV在其天然宿主亚洲猴中致病，而且流行率很高，在有的猴群中可达100%，美国几个灵长类研究中心在70年代和80年代初曾因SAIDS的暴发导致大批猴死亡，因此必须定期对猴群进行SRV感染的普查以剔除传染源来保护猴群，必要时使用疫苗。本文择要介绍SRV的国内外研究概况。

一、病 原 学

SRV属于逆转录病毒科，肿瘤病毒亚科的D型病毒。D型的原型病毒Mason Pfizer Monkey Virus（MPMV）于1970年从一只雌恒河猴的自发性乳腺肿瘤组织中分离出来（Chopra and Mason, 1970）。将该病毒接种猴后，并未诱导出肿瘤的发生，却产生了一系列免疫缺陷相关的表现（Fine & Schochetman, 1978）。1984年，SRV从SAIDS病猴体内分离出来，用病毒的细胞培养上清接种猴，诱发出了SAIDS（Daniel *et al.*, 1984；Marx *et al.*, 1984）。在美国，绝大多数SAIDS病例是由SRV感染引起的。

SRV是单链RNA病毒，内含逆转录酶。病毒颗粒呈球形，直径80—130nm，外有糖蛋白囊膜，对乙醚敏感，在20%—60%蔗糖梯度液中浮游密度为1.16—1.18g/ml。D型病毒在电镜下具有不同于B型和C型肿瘤病毒及慢病毒的特征性形态，它在感染细胞的胞浆内为A型颗粒，细胞外未成熟病毒核心为圆形，成熟病毒的核心为圆柱状。病毒有月牙形和圆形两种出芽方式（Chopra *et al.*, 1970；Marx *et al.*, 1984；Daniel *et al.*, 1984）。

SRV已有5个血清型。1983年在加州灵长类研究中心和新英格兰灵长类研究中心分

本文1991年5月9日收到，同年9月19日修回。
* 联系人

离到的SRV属同一血清型，命名为SRV1。分离自俄列岗灵长类研究中心和华盛顿灵长类研究中心的属SRV 2血清型（Daniel *et al.*, 1984; Marx *et al.*, 1984）。SRV3即MPMV。SRV1-3均已分子克隆，并已测出全部核苷酸序列（Thayer *et al.*, 1987）。SRV4由Marx等分离于伯克莱加州大学，SRV5由Axthelm等分离于从中国进口的猴，但SRV4和SRV5均未见正式报道（Gardner *et al.*, 1988）。

SRV的基因组在整体结构上与其它逆转录病毒近似，两端为长末端重复序列（Long Terminal Repeats, LTR），它在病毒DNA的合成、整合和病毒基因的表达等方面起调节作用。中间包含四个开放阅读框架（open reading frames, ORF），从5′端至3′端依次为：（1）编码核心蛋白的gag基因，它编码一个大的前体核心蛋白，在病毒成熟过程中，被蛋白酶水解成6个核心蛋白：P10、PP24、PP18、P12、P27、P14、P4；（2）编码蛋白酶（Protease）的Prt基因；（3）编码逆转录酶（RT）和整合酶（核酸内切酶）的Pol基因；（4）编码囊膜蛋白（外膜蛋白gp70，跨膜蛋白gp20）的env基因。在env基因之后还有一个意义不明的延伸到右侧LTR的短ORF（Thayer *et al.*, 1987）。

SRV各血清型的外膜蛋白之间的差异很大，恢复期SRV感染猴的血清对同型病毒的中和抗体滴度大于1：320，而对其它型的交叉中和滴度小于1：20，竞争性放射免疫分析表明，各型病毒的gp70之间竞争性抑制很弱，但核心抗原P27高度保守，基本相同。通过比较分子克隆的SRV1-3型的由核苷酸序列推衍出的氨基酸序列也得出上述一致的结论，三型病毒的核心蛋白P27的氨基酸序列高度保守，SRV1和SRV3间差异仅1%，SRV1和SRV2、SRV2和SRV3间的差异仅为4%，其它核心蛋白以及蛋白酶、逆转录酶、整合酶、囊膜蛋白C-末端（即跨膜蛋白gp20）的氨基酸序列也很恒定，SRV1和SRV3间的差异小于6%，SRV2与SRV1或SRV3之间的差异在15%—18%。同其它逆转录病毒一样，不同血清型SRV的囊膜蛋白N-末端（外膜蛋白gp70）氨基酸序列差异很大。SRV1与SRV3同源性为83%，而SRV2与SRV1或SRV3的同源性仅58%。比较各型SRV的LTR区核苷酸序列发现，SRV1和SRV3间同源性为88%，而SRV1与SRV2、SRV_2与SRV3之间分别为68%和70%（Thayer *et al.*, 1987）。

SRV的天然宿主为猕猴，猕猴分布于亚洲，故人们认为SRV起源于亚洲（Thayer *et al.*, 1987; Gardner *et al.*, 1988）。但是，Krause等（1989）将70年代初从一个患有转移性子宫癌的妇女的胚胎心肺成纤维细胞中分离出来的PMFV病毒分子克隆，与SRV1的序列比较，发现PMFV与SRV1非常接近，SRV3次之，与SRV2差异较大，氨基酸序列差异分别为3.7%、7.9%、44.2%。Donehower等（1990）还发现从来源于一个AIDS病人的B细胞淋巴瘤细胞中检出的一段逆转录病毒样序列与SRV1和SRV3的Pol基因的一段序列具有90%以上的同源性。这些关于人D型逆转录病毒与SRV同源性的报道，给SRV的起源提出了更多的疑问。关于SRV的生活史，研究甚少，作为逆转录病毒，与HIV等其它逆转录病毒的生活史类似。

二、临床表现

SAIDS在临床上的表现与人AIDS很相似，正因为如此，才被称为猴获得性免疫缺陷

综合症。其基本特征是持续性全身淋巴结肿大，还伴有下列表现：（1）脾脏肿大；（2）中性粒细胞减少（<1700个/μl）；（3）淋巴细胞减少（<1600个/μl）；（4）外周血中有异常的单个核细胞；（5）贫血（PCV<30%）；（6）骨髓增生；（7）特征性淋巴结组织损伤；（8）体重下降（>10%）；（9）持续发热（>39.4℃）；（10）持续性顽固性腹泻；（11）抗菌治疗无效的慢性感染；（12）条件性感染，包括弥漫性巨细胞病毒感染、胞内鸟型分枝杆菌感染、隐包子虫病等；（13）严重的坏死性牙龈炎或胃肠炎；（14）肿瘤：淋巴肉瘤、卡波西样肉瘤、腹后纤维瘤等。如病猴有持续性全身淋巴结肿大和4条以上其它表现即可诊断为SAIDS。SAIDS病猴常由于条件感染、败血症、恶病质、坏死性小肠炎等而死亡（Maul *et al.*, 1986; Henrickson *et al.*, 1984）。

SRV对不同年龄的猴致病性有差异，3岁以上的猴抵抗力较未成年猴强。对不同种类的猴致病表现也有不同，如SRV2在日本猴很少诱发腹膜后纤维瘤（RF），以严重的血液学异常为主，但在苏拉威西猴和豚尾猴，则多诱发RF，血液学异常较轻（Gardner *et al.*, 1988）。

SRV的不同血清型或同一血清型的不同毒株感染猴后，临床表现略有不同，在加州灵长类研究中心分离到的SRV1常引起严重的SAIDS，但是SRV1新英格兰株致病性则似乎较弱，SRV1感染猴的RF发生率低于5%，而SRV2华盛顿株和俄列岗株感染的猴有35%—50%发生RF（Gardner *et al.*, 1988）。

病毒感染猴后可能有多种转归：（1）发生毒血症和急性SAIDS，2—3个月内死亡；（2）间隙性病毒血症，临床上表现为亚急性或慢性病程；（3）持续性病毒血症并排泄病毒，临床上表现为“健康”带毒者；（4）短暂的病毒血症后，产生中和抗体（Kwang *et al.*, 1987; Gardner *et al.*, 1988）。

三、病 理 学

SAIDS病猴最突出的大体病理变化是全身淋巴结肿大，此外还有体重下降、胃肠炎、肝炎、肝脾肿大、肺炎、间质性肾炎、口腔溃疡、皮肤结节、脓肿等。在组织学上，与人AIDS一样，最突出的变化也在淋巴组织。早期，可见淋巴结内滤泡增生，T细胞增多，淋巴滤泡边界不清，有膜IgD+的小淋巴细胞侵入，滤泡内T8抑制性细胞增多，但与早期人AIDS不同，浆细胞相当少。随着疾病的进展，淋巴滤泡渐渐消失，副皮质区Th和Ts细胞缺失，在疾病的晚期，脾脏和淋巴结的淋巴滤泡中T、B细胞大部份消失。皮质区被淋巴母细胞或组织细胞取代，甚至仅残存网状结构。残存的淋巴滤泡发生玻璃样变或崩解。胸腺皮质明显萎缩，胸腺小体有轻微的破坏，骨髓则表现为增生。

SRV感染猴可发生淋巴瘤，皮下纤维瘤，皮下纤维肉瘤（卡波西样肉瘤）（SF）。淋巴瘤多见于SIV感染猴。RF是腹腔浆膜下的一种不明原因的纤维组织浸润性增生，表现为局限型和扩展型。局限性RF组织损害局限于肠系膜根部，回盲肠连接处和肠系膜淋巴结。扩展型RF可侵至肠腔，肠系膜和网膜，致使内脏变成一个韧性纤维结节。纤

维组织也可沿体壁向下扩展至腹股沟环，上至胸腔。增生纤维组织有时可见纤维包膜，表面可见稀疏的结节和凹斑。显微镜下，RF表现为增生型和硬化型。增生型RF在胶原纤维网状结构中，杂乱地排列着很多成纤维细胞，其中穿插大量小血管，还伴有不同程度的淋巴细胞和浆细胞浸润，也可见水肿和粘液性水肿区。硬化型则表现为密集的胶原网中有少量的血管、纤维细胞和炎症细胞。猴RF在组织学上的表现与人RF相似，只是前者多见于年轻猴，后者多见于老年人。SF在大体上表现为躯干、四肢、脸部皮下单个或多个结节，可使表皮发红而类似卡波西肉瘤。但切开结节，切面为白色或黄白色，可见很多小节。它显然起源于皮下组织而非皮肤，但它可侵犯其表面的皮肤，也可侵及深层的肌肉。组织学上，SF的变化与RF类似，组织中大量血管增生，但无自溶和出血，同一肿瘤组织中，常可见硬化型和增生型病变同时存在。与RF不同之处在于，SF增生组织中可见多核细胞。SF常为局部浸润型，组织病变常为多中心性，SF与RF常同时存在，有人甚至认为它只是RF在皮下的表现形式（Marx *et al.*, 1987）。

四、免疫学与致病机理

SAIDS猴外周血T4和T8细胞数量均下降，但T4/T8比率即使在病程的终末期仍正常，而AIDS病人T4/T8比率倒置。SRV病猴体液免疫功能变化突出表现为血中免疫球蛋白水平降低，与人AIDS所表现的高丙种球蛋白血症不同，SAIDS病猴在病程的早期，血中IgG、IgM、IgA即开始下降。补体C3正常，C4水平略增高，这说明免疫球蛋白的降低不是由于蛋白丧失，而是因为产量减少（Wilson *et al.*, 1986）。在机体非特异防御功能中起重要作用的外周血多核白细胞的趋化运动和细胞变形能力丧失，吞噬和杀伤功能也降低（Cheung *et al.*, 1989），但单核细胞和巨噬细胞的功能正常，即使到病猴临死时，单核细胞的趋化性、调理吞噬功能、杀伤功能以及单核细胞和巨噬细胞对内毒素、PMA、干扰素刺激的反应（形态变化和呼吸爆发）仍保持正常，有的病例还可见单核细胞和巨噬细胞吞噬功能和呼吸爆发能力显著增强。虽然单核细胞可被病毒感染并产生病毒，但被感染的单核细胞在体外培养过程中仍具有活力和粘附性。因此，在体内，它可能是病毒潜伏的场所，通过它将病毒或病毒的免疫抑制性产物传给淋巴细胞（LeGrand *et al.*, 1985）。

SRV诱发免疫缺陷的确切机理尚不清楚。SRV的细胞嗜性广泛，在体外，SRV能感染人T细胞系Hut78和H9，人髓性白血病细胞系K562，人B淋巴细胞系Raji，恒河猴肺成纤维细胞及肾细胞，并在这些细胞中增殖。在体内，SRV感染后，病猴或"健康"带毒猴的外周血B细胞、T4细胞、T8细胞以及单核细胞均有病毒感染（Maul *et al.*, 1988），在淋巴结、脾、血清、脑室脉络丛、脑脊液、唾液腺、唾液、尿液、阴道分泌液、泪液、乳汁以及RF和SF肿瘤组织中均可检出病毒，脑实质中可检出病毒的DNA和RNA，但未检出感染性病毒颗粒和病毒抗原，属无症状隐性感染（Lackner *et al.*, 1989; Gardenr *et al.*, 1988）。SRV在体外可以诱导被感染的Hut78、Raji、人和恒河猴的成纤维细胞相互融合形成合胞体（Maul *et al.*, 1988），在体内，淋巴细胞功能的受损可能与病毒基因整合于宿主细胞基因后干扰其正常的基因功能，也可能是由于病

毒产物在细胞内堆积，干扰或抑制了宿主细胞的功能。

五、血清学与流行病学

目前至少已在十种猴中发现SRV感染，包括恒河猴、苏拉威西黑猴、短尾猴、食蟹猴、台湾岩猴、戴帽猴、僧长尾猴、豚尾猴、日本猴，和黑猿（Lowenstine *et al*. 1986）。

在加里福利亚灵长类研究中心的SAIDS流行猴群中，68%—85%的猴血清抗体为阳性，但是在非SAIDS流行猴群中，血清抗体阳性率仅为4%。在新英格兰灵长类研究中心，用ELISA检查发现，该中心34%的猕猴血清抗体为阳性。在俄列岗灵长类研究中心，5%的猴有病毒血症，抗体阳性率为15%—25%。在华盛顿灵长类中心的一个养猴场中，40%的猴血清抗体为阳性，其中三岁以上的猴均为抗体阳性，30%的6月龄以上的猴有病毒血症。在该中心的另一个养猴场内，由于许多猴关在分隔的猴笼内，感染率稍低，50%的猴血清抗体为阳性，25%的猴有病毒血症。在威斯康星灵长类中心，也由于多数猴关在分隔猴笼内，感染率低，用ELISA测得的抗体阳性率仅11.3%，只发现三只SAIDS病猴。如前所述，SRV不同血清型的流行具有地方性。在美国的动物园中SRV流行率很低，约5%（Lowenstine *et al*., 1986）。在美国的达尔他和耶基斯灵长类中心未发现SRV引起的猴艾滋病流行（Gardner *et al*., 1988）。

SRV必须通过直接接触才能在猴间传染。在加州灵长类研究中心的同一露天饲养场内，与SAIDS猴群仅有10英尺“缓冲区”相隔的另一猴群，经九个月观察无SRV感染，而同期放入SAIDS猴群的正常猴83%已死于SAIDS。SRV主要通过猴相互撕咬使含于唾液中的病毒进入伤口而传播，而在所有分泌液与排泄物中，唾液含病毒量最高，用含病毒的唾液接种猴可诱发SAIDS。SRV也能通过性途径和经胎盘传播，但很少见。另外，管理人员在猴之间交互使用注射针头也可引起SRV的传播。6个月至2岁半的猴最易感染，6个月以下的猴可有母体抗体的保护。雄猴和雌猴均易感染，但雌猴病例较多（Lerche *et al*., 1987; Gardner *et al*., 1988）。广泛的血清学调查发现，虽然在亚洲和美国，很多人曾与SRV感染猴接触甚至被咬伤，但血清学检查并未发现SRV传染给人（Krause *et al*., 1989）。

六、猴艾滋病的诊断方法、治疗和预防

SRV感染的诊断除了临床检查外，常用的实验诊断方法有ELISA、免疫斑点试验、免疫印迹（Western blot）、间接免疫荧光（IFA）、病毒分离等。常用ELISA和IFA作为初筛方法，但是，无论ELISA还是IFA，在检查猴血清中SRV抗体时，非特异反应比较严重，在普查非SAIDS流行猴群时，两种方法的假阳性率均可达80%或更高，必须用Western blot检测特异性抗体才能确诊（Lowenstine *et al*., 1986; Kruguer-Higby *et al*., 1990）。

我们用纯化的SRV1作为抗原，以ELISA普查一个共有500多只猴的猴群，发现假阳

性反应较严重，在抗原包被液和血清稀释液中加入NaN3，可在一定程度上抑制假阳性反应。用ELISA和Western blot进行血清学调查，结果表明，4.5%的猴血清中有抗SRV抗体。我们还从该猴群中分离到病毒（Chen *et al.*；贲昆龙等，待发表）。

虽然抗艾滋病药物AZT（3′azido-3′-deoxythymidine）、ddC（2′，3′-dideoxycytidine）、ddA（2′，3′-did oxyadenosine）在体外也有抗SRV的作用（Tsai *et al.*，1988），但这类药物毕竟太昂贵，不可能用于猴，而SRV感染猴一旦发病，对症治疗无效，因此，迫切需要切实有效的疫苗以保护猴类资源免遭SRV的破坏。用福尔马林灭活的SRV1全病毒加佐剂苏氨酰胞壁酰二肽（threonyl muramyl-dipeptide）免疫恒河猴后，再接种SRV1，免疫组6只猴无一例发病，仅1只猴有很短暂的毒血症，而对照组6只猴有5只发生SAIDS（Marx *et al.*，1986）。用表达SRV2囊膜蛋白的重组痘苗病毒免疫豚尾猴后再接种SRV2，免疫组4只猴血清抗体阳转，无病毒血症，也未发病，而对照组4只猴有3只发生SAIDS（Hu *et al.*，1989）。为了防止SRV流行对猴群的危害，必须定期对猴群进行SRV感染的血清学和病毒学检测，剔除传染源，必要时使用保护性疫苗。

参 考 文 献

Cheung ATW *et al.* 1989 Functional incompetence of polymorphonuclear leukocytes in simian acquired immune deficiency syndrome (SAIDS). *FASEB J.* 3(4):A1278.

Chopra HC and Mason MM 1970 A new virus in a spontaneous mammary tumor of a rhesus monkey. *Cance Res.* 30(8):2081.

Daniel MD *et al.* 1984 A new type D retrovirus isolated from macaques with an immunodeficiency syndrome. *Science* 223:602.

Donehower LA *et al.* 1990 The use of primer from highly conserved pol regions to identify uncharacterized retroviruses by the polymerase chain reaction. *J. Virol. Meth.* 28:33.

Fine D and Schochetman G 1978 Type D primate retroviruses:a review. *Cance Res.* 38:3123.

Gardner MB *et al.* 1988 Non-human primate retrovirus isolates and AIDS. In Immunodeficiency disorders and retroviruses (Perk K eds). PP 289-295. Academic Press, New York.

Henrickson RV *et al.* 1984 Clinical features of simian acquired immunodeficiency syndrome (SAIDS) in rhesus monkeys. *Lab. Anim. Sci.* 34(2):140.

Henrickson *et al.* 1983 Epidemic of acquired immunodeficiency in rhesus monkeys. *Lancet* 1:334.

Hu S-L *et al.* 1989 Protection of macaques against simian AIDS by immunization with a recombinant vaccinia virus expressing the envelope glycoproteins of simian type D retrovirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:7213.

Krause *et al.* 1989 Molecular cloning of type D retrovirus from human cell (PMFV) and its homology to simian acquired immunodeficiency type D retroviruses. *Virol.* 173:214.

Krugner-Higby L *et al.* 1990 Serological survey for two simian retroviruses in macaques and African green monkeys. *Lab. Anim. Sci* 40(1):24.

Kwang H-S *et al.* 1987 Viremia, antigenemia, and serum antibodies in rhesus macaques infected with simian retrovirus type 1 and their relationship to disease course. *Lab. Invest.* 56(6):591.

Lackner AA *et al.* 1989 Asymptomatic infection of the central nervous system by the macaque immunosuppressive type D retrovirus, SRV-1. *J. gen. Virol.* 70:1641.

LeGrand EK *et al.* 1985 Monocyte function in rhesus monkeys with simian acquired immune deficiency

syndrome. *Veter. Immunol. Immunopathol.* 10:131.

Lerche NW *et al.* 1987 Natural history of endemic type D retrovirus infection and acquired immune deficiency syndrome in group-housed rhesus monkeys. *JNCI* 79(4):847.

Letvin NL *et al.* 1983. Acquired immunodeficiency syndrome in a colony of macaque monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80:2178.

Lowenstine LJ *et al.* 1986 Seroepidemiologic survey of captive old world primates for antibodies to human and simian retroviruses and isolation of a lentivirus from sooty mangabeys. *Int. J. Cancer* 38:563.

Marx PA and Lowenstine LJ 1987 Mesenchymal neoplasms associated with type D retroviruses in macaques. *Cancer Surveeys* 6(1):101.

Marx PA *et al.* 1986 Prevention of simian acquired immune deficiency syndrome with a formalin-inactivated type D retrovirus vaccine. *J. Virol.* 60(2):431.

Marx PA *et al.* 1984 Simian AIDS: isolation of a type D retrovirus and transmission of the disease. *Science* 223:1083.

Maul DH *et al.* 1988 Simian retrovirus D serogroup 1 has abroad cellular tropism for lymphoid and nonlymphoid cells. *J. Virol.* 62:1768.

Maul DH *et al.* 1986 Pathogenesis of simian AIDS in rhesus macaques inoculated with the SRV-1 strain of type D retrovirus. *Am. J. Vet. Res.* 47(4):863.

Thayer RM *et al.* 1987 Sequence relationship of type D retroviruses which cause simian acquired immunodeficiency syndrome. *Virol.* 157:317.

Tsai C-C *et al.* 1988a Antiviral effects of 3′-azido-3′-deoxythymidine, 2′, 3′-dideoxycytidine, and 2′, 3′-dideoxyadenosine against simian acquired immunodeficiency syndrome-associated type D retrovirus in vitro. *AIDS Res. Human Retrovirus* 4(5):359.

Wilson BJ *et al.* 1986 Transmission of simian acquired immunodeficiency syndrome with a type D retrovirus: immunological aspects. *Clin. Immunopathol.* 41:453.